

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИЗМЕНЧИВОСТИ БИОПРОДУКЦИОННЫХ ПАРАМЕТРОВ У РЕГЕНЕРАНТОВ СОРТА DUKE ГОЛУБИКИ ВЫСОКОРОСЛОЙ *VACCINIUM CORYMBOSUM* L. IN VITRO НА СРЕДАХ РАЗНОГО ГОРМОНАЛЬНОГО СОСТАВА

**П.А. Волотович**

Гимназия № 1 г. Пинска

**Т.В. Герасимович**, младший научный сотрудник НИЛ клеточных технологий в растениевод-

стве биотехнологического факультета

Научный руководитель – **А.А. Волотович**, к.б.н., доцент

Полесский государственный университет

Голубика высокорослая *Vaccinium corymbosum* L. – перспективный вид для промышленного культивирования в условиях Республики Беларусь, особенно в южной агроклиматической зоне [1].

Клональное микроразмножение видов рода *Vaccinium* рассматривается как один из основных промежуточных этапов современной технологии ускоренного производства качественного посадочного материала в промышленных объемах. Результаты научных исследований, проведенных на базе научно-исследовательской лаборатории клеточных технологий в растениеводстве биотехнологического факультета учреждения образования “Полесский государственный университет” в 2009–2011 гг. [2], позволили существенно изменить традиционные [3] в Республике Беларусь подходы к клональному микроразмножению растений голубики высокорослой. В частности, они позволили усовершенствовать составы питательных сред и сделать процесс производства посадочного материала более технологичным, что подтверждается четырьмя патентами на изобретения № 18521, № 18431, № 18742, № 18710, полученными в 2014 году в Национальном центре интеллектуальной собственности Республики Беларусь [4–7].

Применяемые в Республике Беларусь современные подходы к клональному микроразмножению разных сортов растений *Vaccinium corymbosum* L. [2], нуждаются в серьезной и существенной доработке на предмет увеличения производительности и качества посадочного материала, с учетом особенностей размножения каждого отдельного генотипа.

Исследования проводили на базе биотехнологической лаборатории НИЛ клеточных технологий в растениеводстве УО «Полесский государственный университет» в ноябре–декабре 2014 года.

В качестве объекта исследований использовали размножаемые *in vitro* регенеранты (экспланты) сорта Duke голубики высокорослой *V. corymbosum* L. Общее количество анализируемых регенерантов для каждого варианта опыта и контроля составило не менее 30 шт. (три стеклянных емкости, по 10 регенерантов в каждой). Регенеранты получали в результате культивирования эксплантов (состоящих из двух метамеров) в колбах конических (объемом по 100 мл) с 20 мл стерильной агаризованных, питательных сред на микро-, макро- солевой основе, с органическими соединениями (кроме фитогормонов) по Андерсона [8], различающихся по наличию ауксинов (ИУК, ИМК) и цитокининов (зеатин), на фоне полноценного, либо половинного состава AN, в соответствии с приведенными ниже вариантами опыта:

1. Контроль – AN без фитогормонов;
2.  $\frac{1}{2}$  AN без фитогормонов;
3. AN + 1,0 мг/л Z;
4. AN + 2,0 мг/л Z;
5.  $\frac{1}{2}$  AN + 0,1 мг/л ИУК;
6.  $\frac{1}{2}$  AN + 1,0 мг/л ИУК;
7.  $\frac{1}{2}$  AN + 0,1 мг/л ИМК

Учет анализируемых признаков – количество побегов, высота регенеранта, коэффициент размножения, количество листьев, длина корней и жизнеспособность эксплантов – проводили через 6 недель культивирования на стеллажах световой установки культурального помещения биотехнологической лаборатории при температуре +25°C, фотопериоде день/ночь – 16ч/8ч, освещенности 6000 лк (4 люминесцентных лампы OSRAM L36W/76 Natura), относительной влажности воздуха 70%.

Общий математический анализ данных проводили по стандартным методам вариационной статистики [9], с использованием программы статистического анализа данных STATISTICA 6.0 [10].

Результаты исследований приведены в таблице.

Таблица – Изменчивость количественных признаков у регенерантов сорта Duke голубики высокорослой *Vaccinium corymbosum* L.

Вариант опыта	КП, шт.	ВР, см	КР	КЛ, шт.	ДК, мм	ЖЭ, %
1	1,0±0,0	1,3±0,2	2,1±0,2	4,9±0,6	0,0	36,7±8,8
2	1,0±0,0	0,6±0,1	1,2±0,1	3,1±0,3	0,0	33,3±3,3
3	1,2±0,1	<b>1,9±0,1**</b>	<b>2,9±0,2**</b>	<b>9,2±0,7**</b>	0,0	100,0±0,0
4	<b>1,8±0,2**</b>	1,4±0,1	<b>4,0±0,3**</b>	<b>7,6±0,4**</b>	0,0	100,0±0,0
5	1,0±0,0	<b>1,4±0,1**</b>	1,0±0,0	<b>4,9±0,3*</b>	<b>0,8±0,1**</b>	23,3±3,3
6	1,0±0,0	0,8±0,1	1,0±0,0	4,3±0,6	<b>1,1±0,3**</b>	33,3±12,0
7	1,0±0,0	<b>1,5±0,1**</b>	1,0±0,0	<b>4,9±0,5*</b>	<b>1,9±0,4**</b>	30,0±10,0
НСР <sub>0,05</sub>	<b>0,4</b>	<b>0,4</b>	<b>0,4</b>	<b>1,7</b>	<b>0,1</b>	<b>18,8</b>
НСР <sub>0,01</sub>	<b>0,6</b>	<b>0,6</b>	<b>0,6</b>	<b>2,3</b>	<b>0,2</b>	<b>26,4</b>

Примечания. Данные представлены как среднее арифметическое ± стандартная ошибка среднего арифметического; НСР – наименьшая существенная разница. Признаки: КП – количество побегов, шт.; ВР – высота регенеранта, см; КР – коэффициент размножения; КЛ – количество листьев, шт.; ДК – длина корней, мм; ЖЭ – жизнеспособность эксплантов, %

\* – достоверно отличается от контрольного значения при  $P<0,05$ ; \*\* – при  $P<0,01$

В эксперименте вариант опыта 1 являлся контролем для вариантов опыта 3 и 4, содержащих цитокинин, а вариант опыта 2 – контролем для вариантов опыта 5–7, содержащих ауксин. По количеству побегов наиболее высокий показатель, достоверно при  $P<0,01$  превышающий показатель в контроле в 1,8 раза, наблюдался в вариантах опыта с 2,0 мг/л зеатина (вариант 4; таблица). Следует также отметить тенденцию увеличения показателей признака с ростом концентрации зеатина в пределах 1,0–2,0 мг/л (варианты 3, 4; таблица). Присутствие ауксина в составе питательной среды никак не отразилось на изменчивости признака “количество побегов” (варианты 2, 5–7).

Наиболее высокие показатели высоты регенерантов, достоверно при  $P<0,01$  превышающие показатели в контроле в 1,5 раза, наблюдались при концентрации зеатина 1,0 мг/л (вариант 3; таблица). Кроме того, установлена тенденция уменьшения показателей признака с ростом концентрации зеатина в пределах 1,0–2,0 мг/л (варианты 3, 4; таблица). На половинной по составу питательной среде высота регенерантов уменьшилась достоверно при  $P<0,01$  более чем в 2 раза (варианты 1, 2; таблица). В присутствии 0,1 мг/л ауксинов показатели признака восстанавливались до уровня показателей признака на полноценной среде без фитогормонов (варианты 1, 5, 7; таблица). При этом превышение к контролю, достоверное при  $P<0,01$ , составило в 2,3 – 2,5 раза (варианты 2, 5, 7; таблица). При повышении концентрации ИУК до 1,0 мг/л показатели признака снижались до уровня исходных (варианты 2, 6; таблица).

С ростом зеатина в пределах 1–2 мг/л коэффициенты размножения достоверно при  $P<0,01$  увеличивались в 1,4–1,9 раза (варианты 1, 3, 4; таблица). В присутствии ауксина показатели признака несущественно снижались (варианты 2, 5–7; таблица). В присутствии зеатина достоверно при  $P<0,01$  увеличивалось в 1,6–1,9 раза количество листьев у регенерантов (варианты 1, 3, 4; таблица). При этом с ростом концентрации зеатина в пределах 1–2 мг/л, наблюдалась тенденция уменьшения количества листьев, хотя, в целом, показатели достоверно превышали контрольные в указанное количество раз.

На половинной по составу питательной среде количество листьев достоверно при  $P<0,01$  уменьшилось в 1,6 раза (варианты 1, 2; таблица). В присутствии 0,1 мг/л ауксинов показатели признака восстанавливались до уровня показателей признака на полноценной среде без фитогормонов (варианты 1, 5, 7; таблица). При этом превышение к контролю (вариант 2), достоверное при  $P<0,01$ , составило в 1,6 раза (варианты 2, 5, 7; таблица). При повышении концентрации ИУК до 1,0 мг/л показатели признака несущественно снижались (варианты 2, 6; таблица). Данные по изменчивости количества листьев у регенерантов коррелируют с данными по изменчивости высоты регенерантов, с сохранением всех установленных тенденций (таблица).

Корни у регенерантов формировались только в присутствии ауксина, ИУК или ИМК, в составе питательной среды (таблица). При этом максимальная длина корней наблюдалась в присутствии 0,1 мг/л ИМК, превышая в 1,7–2,4 раза длину корней у регенерантов, растущих на среде с 0,1–1,0 мг/л ИУК (таблица).

Наиболее высокие, 100% показатели жизнеспособности эксплантов наблюдались в присутствии 1–2 мг/л зеатина (таблица). В остальных случаях показатели жизнеспособности эксплантов составляли 23,3–36,7% (таблица). Следует отметить тенденцию увеличения показателей жизнеспособности эксплантов с ростом концентрации ИУК в пределах 0,1–1,0 мг/л.

#### Список использованных источников

1. Рупасова Ж.А. Голубика высокорослая: оценка адаптационного потенциала при интродукции в условиях Беларуси. – Минск: Белорус. наука, 2007. – 442 с.

2. Кудряшова О.А. Физиолого-биохимические особенности действия brassinosteroidов на процессы микроклонального размножения голубики высокорослой *Vaccinium corymbosum* L. / О.А. Кудряшова. – Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05. – физиология и биохимия растений. – Минск, 2015. – 175 с.

3. Сидорович Е.А., Кутас Е.Н. Клональное микроразмножение новых плодово-ягодных растений. Минск: Навука і тэхніка, 1996. 246 с.

4. BY 18521 C1 2014.08.30, ГР от 27.05.2014

5. BY 18431 C1 2014.08.30, ГР от 09.04.2014

6. BY 18742 C1 2014.08.30, ГР от 06.08.2014

7. BY 18710 C1 2014.08.30, ГР от 29.07.2014

8. Trigiano R.N., Gray D.J. Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises. Boca Raton: CRC, 2000. – 454 p.

9. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М., 1985. – 351 с.

10. Боровиков В.П. STATISTICA: Искусство анализа данных на компьютере. СПб., 2001. – 650 с.